

«Утверждаю»

Проректор начальник
управления научной политики
ФГБОУ ВО

«Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»
член-корреспондент РАН
Федянин Андрей Анатольевич

08.06.2026 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова».

о диссертационной работе **Мартыновой Натальи Юрьевны**
«Белковые комплексы с участием цитоскелетного белка зиксина в процессах эмбриональной дифференцировки и морфогенеза»,
представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

Актуальность исследования

Развитие многоклеточного организма требует точной координации двух взаимосвязанных процессов – морфогенетических движений клеток и их дифференцировки. Молекулярные механизмы, обеспечивающие эту координацию, остаются одной из центральных проблем биологии развития. В ходе эмбриогенеза клетки не только следуют генетически детерминированным программам, но и активно реагируют на механические стимулы, возникающие при гаструляции, нейруляции и органогенезе. Растяжение, сжатие, сдвиговые напряжения и изменение жёсткости внеклеточного матрикса способны модулировать экспрессию генов, однако конкретные белки-посредники, передающие механические сигналы от цитоскелета к ядру, остаются недостаточно изученными, особенно в условиях целого развивающегося организма. Цитоскелетный белок зиксин привлекает внимание исследователей благодаря своей уникальной способности локализоваться одновременно в фокальных адгезиях, вдоль актиновых стресс-фибрилл и в ядре. В культурах клеток зиксин хорошо охарактеризован как механосенсор: он рекрутируется в участки механического натяжения, а его ядерная транслокация индуцируется циклическим растяжением. Кроме того, зиксин служит скаффолдом для сборки мультипротеиновых комплексов, участвуя в регуляции сигнальных путей Hippo, Wnt и TGF- β . Однако подавляющее большинство этих данных получено на клеточных линиях, тогда как роль зиксина в эмбриогенезе

позвоночных оставалась мало исследованной. В частности, оставалось неясным, как зиксин, интегрируя механические сигналы, влияет на ключевые морфогенетические процессы – формирование нервной трубки, регионализацию переднего мозга, дорсовентральную разметку – и как его функции связаны с регуляцией экспрессии генов на посттранскрипционном уровне.

Диссертация Мартыновой Н.Ю. восполняет этот пробел, представляя комплексное исследование функций зиксина на модели *Xenopus laevis*. Автором был идентифицирован гомолог зиксина у шпорцевой лягушки, охарактеризован его пространственно-временной паттерн экспрессии, выявлены новые белковые партнёры (Xanfl, Ptc2, Gli1, Zic1, Ybx1) и раскрыты молекулярные механизмы, посредством которых зиксин модулирует сигнальные пути Hedgehog и ретиноевой кислоты, а также контролирует стабильность мРНК ключевых регуляторов плюрипотентности и дифференцировки.

Полученные данные имеют фундаментальное значение для понимания механизмов нейруляции, органогенеза и регуляции клеточной пластичности.

Структура и содержание диссертации

Диссертация изложена на **402 страницах**, содержит **82 рисунка** и **8 таблиц**. Работа включает введение, обзор литературы (12 подразделов), результаты (12 подразделов), обсуждение, материалы и методы, заключение, выводы, список литературы (449 источников) и 5 приложений.

Введение содержит обоснование актуальности, постановку цели и задач, формулировку положений, выносимых на защиту, а также характеристику научной новизны и практической значимости.

Обзор литературы (с. 21–128) написан на высоком профессиональном уровне. В нём детально рассмотрены молекулярная структура зиксина, его посттрансляционные модификации, белковые партнёры, участие в регуляции цитоскелета и механотрансдукции, а также роль в патогенезе заболеваний и эмбриогенезе на разных модельных организмах. Особое внимание уделено функциям зиксина в развитии нервной системы, его взаимодействию с фактором Xanfl, участию в сигнальном пути Hedgehog и регуляции плюрипотентности. Обзор критически анализирует литературу и логически подводит к задачам исследования.

Результаты (с. 129–264) – основной раздел работы. В нём последовательно представлены: идентификация и характеристика зиксина *Xenopus* (2.1); анализ его посттрансляционных модификаций (2.2); пространственно-временная динамика экспрессии (2.3); взаимодействие с Xanfl (2.4); поиск белковых партнёров (2.5); модуляция Hedgehog-сигналинга через Ptc2, Gli1 и

Zic1 (2.6); влияние нокдауна зиксина на экспрессию генов (2.7); роль комплекса зиксин–Ybx1 в стабильности мРНК *pou5f3* (2.8); эволюционная консервативность механизма (2.9); влияние на экспрессию *rxrg* и сигналинг ретиноевой кислоты (2.10); RIP-seq идентификация генов-мишеней (2.11); протеомный анализ динамики интерактома зиксина (2.12). Каждый раздел иллюстрирован рисунками и таблицами, материал изложен логично.

Обсуждение (с. 265–284) содержит интерпретацию полученных данных в контексте современной литературы, включая сопоставление с результатами других исследовательских групп.

Материалы и методы (с. 285–305) написаны подробно, что обеспечивает полную воспроизводимость экспериментов. Описаны методы работы с ДНК и белками, работа с эмбрионами *Xenopus*, *Danio*, клетками НЕК293, методы гибридизации *in situ*, транскрипции *in vitro*, использования морфолино, люциферазных репортеров, РНК-иммунопреципитации, высокопроизводительного секвенирования, CRISPR/Cas9-редактирования, масс-спектрометрии (DDA и DIA).

Заключение и выводы (с. 306–309) кратко резюмируют основные результаты и соответствуют поставленным задачам.

Научная новизна и достоверность результатов

В диссертации получен ряд новых результатов, важных для молекулярной биологии развития.

Клонирование и характеристика зиксина *Xenopus laevis*.

Впервые идентифицирован и охарактеризован гомолог зиксина у шпорцевой лягушки. Выявлены его доменная организация, пространственно-временной паттерн экспрессии, а также масс-спектрометрически определены посттрансляционные модификации, включая N-концевое ацетилирование и фосфорилирование по Ser198, Ser386 и в LIM-домене (Thr499/Ser501). Обнаружение фосфорилирования внутри LIM-домена открывает новое направление в исследовании регуляции этих белков.

Взаимодействие с транскрипционным репрессором Xanfl.

Впервые показано прямое связывание зиксина с Xanfl через LIM2 и EN1 домены. Доказана функциональная значимость этого взаимодействия для нормального морфогенеза переднего мозга.

Модуляция Hedgehog-сигналинга.

Впервые выявлены и охарактеризованы взаимодействия зиксина с Ptc2, Gli1 и Zic1. Показано, что зиксин ингибирует ДНК-связывающую активность Gli1 и образует тройной комплекс Zic1–Gli1–зиксин. Впервые

продемонстрирована роль эндогенного зиксина как негативного регулятора Shh-пути *in vivo*.

Посттранскрипционная регуляция стабильности мРНК.

Раскрыт новый механизм: зиксин через взаимодействие с Ybx1 контролирует стабильность мРНК *pou5f3* и *rxrg*. Методом RIP-seq идентифицированы зиготические гены-мишени, включая *crx*, *cer1*, *foxn3*, *mix1*. Это впервые связывает цитоскелетный белок с посттранскрипционным контролем генов головного организатора.

Эволюционная консервативность.

Нокдаун зиксина у *Danio rerio* и нокаут *ZYXIN* в клетках HEK293 активируют гены плюрипотентности (*nanog*, *OCT4*, *NANOG*, *KLF4*), что доказывает консервативность механизма и его значимость для клеток человека.

Протеомный анализ интерактома.

Впервые охарактеризована динамика белковых комплексов зиксина на трёх стадиях эмбриогенеза. Выявлена двухкомпонентная архитектура: консервативное ядро (талин, винкулин, актин) и стадийно-специфическая периферия (Ybx1 на стадии 14, Gli1 на стадии 16).

Достоверность результатов обеспечена комплексом взаимодополняющих методов, работой на нескольких модельных системах, статистической обработкой данных с контролем множественных биологических повторностей. Выводы логически обоснованы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Диссертация вносит существенный вклад в понимание молекулярных механизмов, связывающих морфогенетические движения, механическую трансдукцию и клеточную дифференцировку. Предложена модель, в которой зиксин выступает как динамически перепрограммируемый скаффолд, интегрирующий сигналы от цитоскелета, сигнальные каскады (Hedgehog, ретиноевой кислоты) и посттранскрипционный контроль экспрессии генов. Идентификация зиготических генов-мишеней (*crx*, *cer1*, *foxn3*, *mix1*) раскрывает новую роль зиксина в формировании головного организатора и переднего мозга. Полученные данные углубляют представления о том, как механические стимулы, возникающие в ходе морфогенеза (например, при гастрულიи и нейруляции), могут быть преобразованы в изменения экспрессии генов, определяющих судьбу клеток.

Выявленные белковые взаимодействия (зиксин–Ybx1, зиксин–Gli1, зиксин–Xanfl) представляют собой потенциальные мишени для модуляции клеточной пластичности в регенеративной медицине и онкологии. Активация генов плюрипотентности при нокауте *ZYXIN* в клетках человека указывает на возможную роль зиксина как супрессора опухолевого роста. Созданные

генетические конструкции и протоколы могут быть использованы в лабораториях биологии развития и молекулярной онкологии.

При общей высокой оценке диссертационной работы необходимо отметить ряд мелких недочётов преимущественно технического и оформительского характера, которые не снижают научной значимости исследования, но могут быть учтены автором в дальнейшей работе.

Опечатки и стилистические погрешности. В тексте диссертации встречаются единичные опечатки и незначительные стилистические неточности. Например, в разделе 2.2 (с. 132) «Посттрансляционные модификации зиксина» встречается дублирование фразы «Это исследование было проведено в связи с тем, что расчетная масса зиксина составляет...» (абзац перед рисунком 19).

Оформление рисунков. Некоторые рисунки перегружены информацией и имеют мелкий шрифт, что затрудняет их восприятие. В частности, рисунок 1 (с. 24–25) содержит множество панелей (а, б, в, г) с мелкими подписями; рисунок 2 (с. 35) – схема доменной архитектуры зиксина – также имеет мелкие условные обозначения.

Нумерация и ссылки на рисунки. В тексте встречаются ссылки на рисунки с неполной нумерацией (например, «Рисунок 1» без указания панели), что иногда затрудняет поиск нужного элемента.

Оформление таблиц. Таблица 2 (с. 38–41) содержит объединённые ячейки и сложную структуру, что в печатном виде выглядит громоздко. Некоторые столбцы имеют избыточную ширину. В таблице 8 (с. 247) отсутствует заголовок колонки для первой графы (с номерами).

Отсутствие единообразия в обозначении стадий развития. В одних местах используется обозначение «стадия 11», в других – «ст. 11» (сокращение). Желательно придерживаться единого стиля.

Все перечисленные замечания носят рекомендательный характер и не влияют на достоверность и научную ценность представленных результатов. Диссертация в целом оформлена на хорошем уровне и соответствует требованиям ВАК.

Заключение

Диссертационная работа Мартыновой Н.Ю. является завершённым, оригинальным и высокопрофессиональным научным исследованием, выполненным на современном методическом уровне. Она вносит фундаментальный вклад в понимание молекулярных механизмов,

связывающих цитоскелет, механотрансдукцию и регуляцию экспрессии генов в развитии.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований, достоверности и обоснованности выводов диссертация Мартыновой Натальи Юрьевны соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 №1539), а сама диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология.

Отзыв обсужден и одобрен (утвержден) на семинаре (заседании) кафедры эмбриологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, (протокол № 6 от 02 июня 2026 г.)

Отзыв подготовлен:

Профессор каф. эмбриологии, д.б.н. М.Л.Семенова

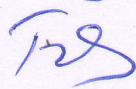
Ведущая организация: Федеральное
государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Московский государственный университет
имени М. В. Ломоносова».

Профессор каф. эмбриологии, д.б.н.



М.Л.Семенова

Уч.секретарь каф. эмбриологии, к.б.н.



О.В.Бурлакова

«04» июня 2026 г.

Подписи удостоверяю:

Декан Биологического факультета
ФГБОУМО

МГУ имени М.В. Ломоносова

Академик РАН



/М.П.Кирпичников/

